

Нов предизвик во токсикологијата: нанотоксикологија

Доц. д-р Даринка Ѓоргиева Ацкова

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип

Додека во моментов нанотехнологијата, производството и примената на наночестичките растат експоненцијално, истражувањата за токсиколошкото влијание и можната опасност од наночестичките за здравјето на луѓето и животната средина се уште се наоѓаат на своите почетоци. Правилната карактеризација на наноматеријалите, како и разбирањето на процесите што се случуваат на површината на наночестичките кога ќе стапат во контакт со живите системи, е од клучно значење за да се разберат можните токсиколошки ефекти. Дозата и влезните врати на наночестичките во човечкото тело како параметри се од суштинско значење за идентификација на ризиците и проценка на ризикот од новите нанотехнологии вклучувајќи го тука и развојот на нови нано-фармацевтски формулации.

Општиот традиционален интерес на токсикологијата се негативните токсични ефекти на хемикалиите за луѓето, животните и за животната средина. Клучни параметри за конвенционалната токсикологија се концентрацијата и времето. Овие фактори се мерливи и може лесно да се определат за единечни хемикалии и откако ќе се утврди природата на одговорот кон дозата на определена хемикалија, може да се утврдат границите во кои хемиското соединение може да се смета за "безбедно" или за "опасно". Нанотоксикологијата како научна област се појавува неодамна, години по првиот бум на нанотехнологијата, кога веќе различни наноматеријали се воведени во голем број индустриски процеси и производи. Додека ние во голема мера ги разбираме својствата на хемикалиите на молекуларно ниво, постојат нови својства на наноматеријалите во зоната на нано-димензиите. Наноматеријалите се изградени од сè помали и помали честички со што се менува нивната површинска хемија, а истовремено хемиската реактивност се зголемува.

Растечката загриженост за можните негативни здравствени ефекти од наночестичките и наноструктурите е базирана на претходното искуство со познати токсични супстанции, на пример, азбестот или пак загадувањето на воздухот, водата и почвата од различни причинители. Иако јаглородните нанотуби, на пример, се многу помали од азбестните влакна, постојат стравови дека би можеле да имаат ефект сличен на токсичниот ефект на азбест врз клетките. Малку е познато за ефектите на долгорочната изложеност на новосинтезираните наночестички и сè уште не се достапни епидемиолошки податоци, поради релативната новина на нанотехнологијата. Сепак, епидемиолошките податоци за загадувањето на воздухот од прав кој се состои од ултра-фини честички ($< 100 \text{ nm}$) се достапни и може да помогнат да се укаже на епидемиолошките трендови и да се прикажат можните долгорочни опасни ефекти на синтезираните наночестички кога тие се ослободуваат во животната средина. Во моментов најмногу испитувани наночестички кои спаѓаат во оваа категорија се:

титаниум диоксид, цериум диоксид, силициум диоксид, цинк оксид, сребрени наночестички и јаглеродни нанотуби. На пациентите со хронични заболувања, како што се хронична опструктивна пулмонарна болест, астма и кардиоваскуларни болести може да им се помогне со лекови или дијагностички процедури базирани на наночестички, но тоа се и истите пациенти чие здравје најпрво негативно е засегнато од наночестичките присутни во животната средина. Способноста на наночестичките да целат кон и да пенетрираат во одредени органи и клетки придонесува за нивната токсичност, а истовремено ова е и особината која посебно се експлоатира во наномедицината.

Од друга страна, механизмите на интеракција помеѓу наночестичките и живите системи сèуште не се целосно разјаснети, што поставува уште повеќе прашања за размислување имајќи предвид дека медицинско-фармацевтската примена на наночестичките сè повеќе зема замав (на пример, се поголемата употреба на златни наночестички поради нивните одлични биоконјугациски способности). Комплексноста доаѓа со способноста на наночестичките да се врзуваат и да комуницираат со биолошката материја, да ги менуваат нејзините површински карактеристики, во зависност од околината во која се наоѓаат. Научните сознанија за механизмите на интеракција наночестички-клетки се акумулираат во последниве години, покажувајќи дека клетките ги превземаат наночестичките преку активен или пасивен транспорт. Интрацелуларно, овие механизми се уште посложени, бидејќи дури и различни честички од еден исти материјал може да покажуваат комплетно различни својства (поради разлики во површинските карактеристики, полнежот или големината). Сè ова ја прави категоризацијата на однесувањето на наночестичките во биолошките системи не така лесна работа.

Поставувањето на протоколите за токсиколошка анализа на наночестички е сèуште во развој и тие сèуште не се валидирани на меѓународно ниво. Има многу варијабли кои се разгледуваат кога се работи со наночестички каде главно се вклучуваат:

- самиот материјал,
- големина на честичките,
- облик,
- површина,
- полнење,
- обложување,
- дисперзија,
- агломерација,
- агрегација,
- концентрација и
- матриксот.

Во однос на навлегувањето на наночестичките во човечкото тело како главни влезни врати се сметаат:

- белите дробови,
- гастро-интестиналниот тракт и
- кожата.

Додека, како крајни целни органи за токсично дејство на наночестички се идентификувани:

- белите дробови,
- црниот дроб,
- срцето и
- мозокот.

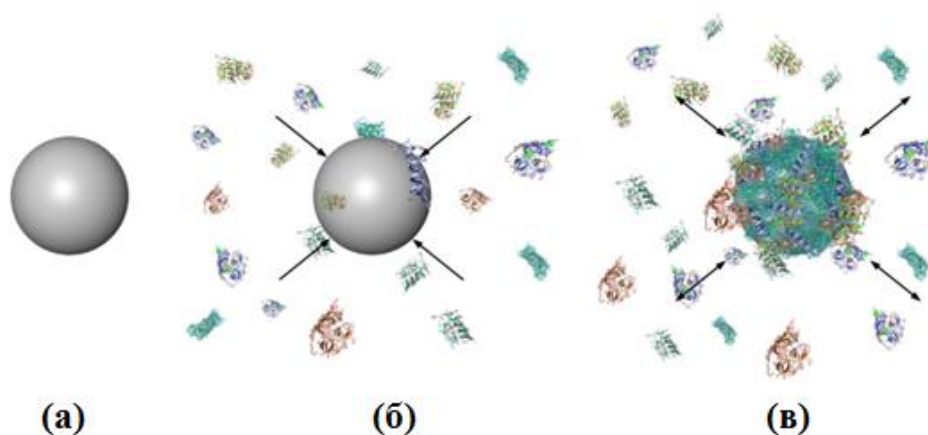
Врз основа на досегашните сознанија во врска со нанотоксичноста, предложен е систем за класификација на наночестичките во четири класи (I до IV) почнувајќи од низок/нема ризик (I), среден ризик (II и III) до висок ризик од токсичност (IV). Овој систем се нарекува Нанотоксиколошки систем за класификација (Nanotoxicological Classification System (NCS)) и е базиран на големината на наночестичките ($>/<100\text{ nm}$), разликите во однос на интеракцијата со човечките клетки и врз биоразградливоста/не-биоразградливоста во телото (слика 1). Овој класификациски систем треба да помогне како водич во развојот на соодветни фармацевтски формулации каде е направена проценка на токсичноста, но исто така и да послужи како водич за проценка на ризик и во други области каде се имплементирани наночестичките.



Слика 1: Нанотоксиколошки систем за класификација

Наночестичките во биолошки контекст никогаш не се сами како честички. Штом честичките доаѓаат во контакт со хетерогена средина (течност или гас), помали структури како што се атоми, групи на атоми, единечни молекули и/или макромолекули се прикачуваат на површината на честичката, врзувајќи се силно или

слабо со неа. Во биолошката средина каде што се присутни биомолекули како што се протеини и полимери, овој површински слој е наречен „корона“ (слика 2). Истражувањата покажуваат дека не самиот наноматеријал, туку „короната“ е таа која ги дефинира својствата на соединението „наночестичка + корона“, затоа при тестирање за нанотоксичност неопходно е да се има во предвид не само наноматеријалот туку и околината на наночестичките. Короната може да биде „цврста“ – кога протеините формираат силни врски со површината на честичката или „мека корона“ каде протеините се врзани со слаби врски и формираат рамнотежен слој со околната микросредина.



Слика 2: Формирање на корона на наночестички: а) наночестичка, б) наночестичка во контакт со протеини, в) формирање на корона.

Механизмите на нано-био интеракциите може да бидат или хемиски или физички. Хемиските механизми вклучуваат производство на реактивни слободни кислородни радикали (ROS), растварање и ослободување на токсични јони, нарушување на транспортната активност за електрони/јони преку клеточни мембрани, оксидативно оштетување со катализа, липидна пероксидација или површински промени. ROS се сметаат за главниот хемиски фактор во нанотоксикологијата што доведува до секундарни процеси кои во крајна линија можат да предизвикаат оштетување на клетките, иницијација на воспалителни процеси, директни влијанија врз клеточниот интегритет, па дури и клеточна смрт. Физичките механизми на интеракциите главно се резултат на големината на честичките и својствата на површината и вклучуваат нарушување на: мембрани, мембранска активност, транспортни процеси, конформација на протеини/преклопувања и агрегација на протеини.

Можните патофизиолошки и токсични ефекти кои досега се детектирани како резултат на употребата од различни типови наночестички сумарно се прикажани во табелата подолу.

Табела 1: Можни патофизиолошки и токсични ефекти индуцирани од различните видови наночестички

Експериментално докажани ефекти од наночестички	Можни патофизиолошки и токсични ефекти
Генерирање на ROS	Оштетување на протеини, ДНК и мембрани, оксидативен стрес
Оксидативен стрес	Индукција на ензими од Фаза 2 на метаболизмот, воспаление, пертурбација на митохондри
Пертурбација на митохондри	оштетување на внатрешни мембрани, нарушена пермеабилност, апоптоза, некроза, цитотоксичност
Воспаление	Инфилтрација на ткивата со воспалителни клетки, фиброза, грануломи, атерогенеза, експресија на CRP
Превземање од ретикуло-ендотелијалниот систем	Асимптоматско секвестрирање и акумулација во црн дроб, слезинка и лимфни јазли, можно проширување на органите и нивна дисфункција
Денатурација и деградација на протеини	Загуба на ензимска активност, авто-антигеност, оштетување на ДНК
Навлегување во мозочно ткиво	Оштетување на мозочно и периферно нервно ткиво
Пертурбација на фагоцитната функција, ослободување на медијатори	Хронично воспаление, фиброза, грануломи, интерференција со излучувањето на инфективни агенси
Ендотелијална дисфункција, ефекти врз крвната коагулација	Атерогенеза, тромбоза, миокарден инфаркт
Генерирање на нео-антигени, загуба на имунолеранцијата	Автоимун болести, адјувантни ефекти
Оштетување на ДНК	Мутагенеза, метаплазија, канцерогенеза

Најповеќе, новите нано-пристапи во фармакотерапијата и медицинската дијагностика денес користат наночестички кои имаат за цел подобрување на фармакокинетичкиот/фармакодинамичкиот профил на постоечките (претежно хидрофобни) активни соединенија. Во оваа смисла, ова се употребуваните т.н. „паметни“ ексципиенси или носачи. Напредна апликација на овој пристап на паметни нано-носачи е насочувањето на активната супстанца кон целното место со употреба на силно разгранети дендримери од различен хемиски тип кај кои се инкорпорираат различни циклични јадра како што се карбопептиди, карбопротеини, гликозиди, дендримери базирани на инозитол, циклодекстрини, каликс-арени, резоркарени и порфирины. Дури и едноставните липозоми во составот на различни формулации имаат корист од напредокот на наносинтезите (големина <100 nm) и способноста да се примени софистицирана површинска хемија.

Веќе е во развој и втората генерација на нанотехнологии со апликација во медицина/фармацијата (може да се најде информација на <http://nihroadmap.nih.gov/nanomedicine/>). Овие технологии честопати се инспирирани од решенија претставени во вид на ефикасна клеточна машинерија каде насочено се транспортираат протеини или пак се користат фотони и бранови должини надвор од оние кои се видливи за човечкото око, итн.

Фармацевтската индустрија веќе години наназад користи различни паметни ексципиенси за насочено доставување на лекови кои се раствараат со текот на времето за доставување на растворливи супстанции кои лесно се излачуваат во урината и/или фецесот со што се намалува потенцијалот за биоакumulација и постигнување ефекти надвор од целното место. Се користат и сложени наноформулации каде површината на материјалот е обложена со целни лиганди за испорака на одредена анатомска локација или тип на клетки. На површините на ко-полимерните смеси на наночестички од полилакто-гликолна киселина и полиетилен гликол успешно може да се прикачат голем број лиганди (на пр., конструирана е таква наночестичка со херцептин (анти-HER2 антители)). Во самите наночестички може да се инкорпорираат антиканцерни лекови или на пример помали наночестички (како што е нано-сребро) и да се овозможи доставување на терапевтици до различни клетки, ткива или површини.

Во моментот, единственоста на полето нанотоксикологија во однос на „нано“ префиксот сèуште можеби не е толку јасна. Дека големината на честичките е исклучително важна кога се работи за ефектите врз здравјето – не е спорно, но, децениите истражување покажуваат и дека токсичноста на наночестичките не може да се разбере само како продолжување од она што го знаеме за честичките со поголеми микрометарски димензии и дека постои нешто уникатно околу тоа како делуваат нано-системите во интеракција со биолошките системи, дека можат да покажат неочекувана и невообичаена токсичност, што го оправдува издвојувањето на нанотоксикологијата како посебна област.

Сепак, сèуште сме далеку од формирање прописи или упатства за примена на ефикасни, стандардизирани и валидирани токсиколошки тестови со кои можат точно да се идентификуваат токсиколошките фактори за проценка на нанотоксичност бидејќи постојат премногу параметри чие идентификување секако ќе зависи од идниот развој во оваа нова дисциплина.

Користена литература

Saifi M.A., Khan W., Godugu C. Cytotoxicity of nanomaterials: using nanotoxicology to address the safety concerns of nanoparticles. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 2018; 6: 3-16.

Elsaesser A., Howard C.V. Toxicology of nanoparticles. *Adv Drug Deliver Rev.* 2012; 64: 129-137.

Maynard A.D., Warheit D.B., Philbert M.A. The new toxicology of sophisticated materials: nanotoxicology and beyond. *Toxicological Sci.* 2011; 120(S1): 109-129.

Keck C.M., Muller R.H. Nanotoxicological classification system (NCS) – A guide for the risk-benefit assessment of nanoparticulate drug delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013; 84: 445-448.

Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006; 311: 622–627.

Arora S., Rajwade J.M., Paknikar K.M. Nanotoxicology and in vitro studies: the need of the hour. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012; 258: 151-165.